

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

525,019

PCT/EP2003/009229



Applicant's or agent's file reference M/43161-PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP2003/009229	International filing date (day/month/year) 20 August 2003 (20.08.2003)	Priority date (day/month/year) 20 August 2002 (20.08.2002)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC G01N 33/50		
Applicant GIESING, Michael		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>8</u> sheets, including this cover sheet.  <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  These annexes consist of a total of <u>2</u> sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 19 March 2004 (19.03.2004)	Date of completion of this report 18 January 2005 (18.01.2005)
Name and mailing address of the IPEA/EP  Facsimile No.	Authorized officer  Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP2003/009229

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
 pages 1-47, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages 1-10, filed with the letter of 13 December 2004 (13.12.2004)
- ☒ the drawings:  
 pages 1/1, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item. These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☒ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☒ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 03/09229

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-10	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### 1. Cited Documents

Reference is made to the following documents:

- D1: BOER JUDITH M ET AL: 'Identification and classification of differentially expressed genes in renal cell carcinoma by expression profiling on a global human 31,5000-element cDNA array' GENOME RESEARCH, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, US, Vol. 11, No. 11, November 2001 (2001-11), pages 1861-1870, XP00221 5718, ISSN: 1088-9051
- D2: SARTO C ET AL: 'MODIFIED EXPRESSION OF PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE AND MANGANESE SUPEROXIDE DISMUTASE IN HUMAN RENAL CELL CARCINOMA' ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, GERMANY, Vol. 20, No. 17, November 1999 (1999-11), pages 3458-3466, XP001176871, ISSN: 0173-0835
- D3: WO 9629430 A (JOHN WAYNE CANCER INST; NAT GENETICS INST (US)), 26 September 1996 (1996-09-26)
- D4: MOERK H ET AL: 'INVERSE MRNA EXPRESSION OF THE SELENOCYSTEINE-CONTAINING PROTEINS GI-GPX AND SEP IN COLORECTAL ADENOMAS COMPARED WITH ADJACENT

NORMAL MUCOSA' NUTRITION AND CANCER, LONDON, GB,  
Vol. 37, No. 1, 2000, pages 108-116, XP008014221,  
ISSN: 0163-5581

D5: SARTO C ET AL: 'RENAL CELL CARCINOMA AND NORMAL  
KIDNEY PROTEIN EXPRESSION' ELECTROPHORESIS,  
WEINHEIM, GERMANY, Vol. 18, No. 3/4, 1997, pages  
599-604, XP008026280, ISSN: 0173-0835

D6: GLADYSHEV VADIM N ET AL: 'Contrasting patterns of  
regulation of the antioxidant selenoproteins,  
thioredoxin reductase, and glutathione peroxidase,  
in cancer cells' BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL  
RESEARCH COMMUNICATIONS, Vol. 251, No. 2, 20  
October 1998 (1998-10-20), pages 488-493,  
XP002272356, ISSN: 0006-291X

D7: BRAVARD A ET AL: 'Modifications of the antioxidant  
enzymes in relation to chromosome imbalances in  
human melanoma cell lines' MELANOMA RESEARCH,  
Vol. 8, No. 4, August 1998 (1998-08), pages 329-  
335, XP002272357, ISSN: 0960-8931

D8: PESKIN A V ET AL: 'SUPER OXIDE DIS MUTASE AND  
GLUTATHIONE PER OXIDASE ACTIVITIES IN TUMORS'  
FEBS LETTERS, Vol. 78, No. 1, 1977, pages 41-45,  
XP002272358, ISSN: 0014-5793

D9: KAHLOS KATRIINA ET AL: 'Manganese superoxide  
dismutase in healthy human pleural mesothelium  
and in malignant pleural mesothelioma' AMERICAN  
JOURNAL OF RESPIRATORY CELL AND MOLECULAR  
BIOLOGY, Vol. 18, No. 4, April 1998 (1998-04),  
pages 570-580, XP002272359, ISSN: 1044-1549

2. Novelty, Inventive Step and Industrial Applicability  
(PCT Article 33)

2.1. The present application describes a method for  
examining bodily fluids for cancer cells.

Document D1 describes the examination of tissues in order to measure the expression of manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase in tumor tissue. Although D1 assumes that these proteins can be used as markers for the diagnosis of renal cell carcinoma (D1, page 3458), this document does not describe a method of this type for examining bodily fluids for cancer cells.

Document D2 describes the examination of cancer and normal cells in order to measure the expression of glutathione peroxidase and superoxide dismutase (D2, figure 5). Expression profiles are described that are intended to be used to classify renal cell carcinoma (page 1867). However, document D2 does not describe a method that employs these markers to examine bodily fluids for cancer cells.

Therefore, claim 1 appears novel with respect to documents D1 and D2. The same applies to dependent claims 2-8.

The prior art (D1 to D9) also fails to disclose the following features: an analysis kit containing means for identifying at least one manganese superoxide dismutase gene, at least one thioredoxin reductase gene and at least one glutathione peroxidase gene (claims 9 and 10).

Therefore, the subject matter of claims 1-10 is novel (PCT Article 33(2)).

2.2. Document D1 describes the examination of tissues in order to measure the expression of manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase genes.

As mentioned above, D1 indicates that these proteins can be used as markers for the diagnosis of renal cell carcinoma (D1, page 3458). The present application differs from D1 in that the aforementioned markers (manganese superoxide dismutase and glutathione peroxidase) are used to identify cancer cells in bodily fluids.

The technical effect of this method is that it is possible to detect cancer cells in bodily fluids, including circulating cancer cells, which can differ from those of the primary tumor. In addition, the claimed method is largely independent of the tumor type and is highly reliable.

The technical problem addressed by the application can thus be seen as that of providing a reliable method of detecting cancer cells in bodily fluids that is not limited by the tumor type.

There is nothing in document D1 that could induce a person skilled in the art to develop a method of this type. Therefore, the subject matter of claim 1 and of dependent claims 2-8 involves an inventive step (PCT Article 33(3)).

- 2.3. Claim 9 describes an analysis kit containing means for identifying at least three genes, namely a manganese superoxide dismutase gene, a thioredoxin reductase gene and a glutathione peroxidase gene. Documents D1 and D2 describe components that can be used to identify two of these markers. However, neither D1 nor D2 discloses an analysis kit containing all three components, nor do said documents include any indication of a possible

combination of precisely these three marker molecules.

An analysis kit according to claims 9 and 10 is thus not disclosed or suggested by D1 or D2, alone or in combination.

It follows then the advantageous use of a combination of said three marker molecules, as represented on page 37 of the description, is also neither disclosed nor suggested.

Therefore, claims 9 and 10 satisfy the requirements of PCT Article 33(3).

2.4. The subject matter of claims 1-10 appears to be industrially applicable.

3. Further Observations:

3.1. The application must be self-explanatory and references cannot be incorporated as part of the description (e.g. page 25 of the description).

3.2. The expression "cancer cell" is defined on page 3 so as to also include cells containing precursors of cancer cells. It is unclear whether this definition is generally common. The exact definition of the term should be clear (included) in claim 1 in order to satisfy the requirements of PCT Article 6.

3.3. The expression "in particular" in claim 8 does restrict the scope of protection of the claim and results in a lack of clarity (PCT Article 6).

3.4. The embodiment of the invention (treatment of cancer) described on page 27 is not covered by the current claims. This inconsistency between the claims and the

description leads to doubt as to the subject matter for which protection is sought, and consequently the claims are not clear (PCT Article 6). The applicant should therefore remedy this inconsistency, namely by clarifying that the methods of treatment represented are merely illustrative and are not being claimed.

- 3.5. Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite documents D1 to D9 or indicate the relevant prior art disclosed therein.



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM  
GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 20 JAN 2005

WIPO PCT



10/525019

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts M/43161-PCT	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/PEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 03/09229	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 20.08.2003	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 20.08.2002
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK G01N33/50		
Anmelder GIESING, Michael et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 8 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Bescheids
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Regel 66.2 a)ii) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☐ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  19.03.2004	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  18.01.2005
Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Thumb, W Tel. +49 89 2399-7350 

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):

**Beschreibung, Seiten**

1-47 in der ursprünglich eingereichten Fassung

**Ansprüche, Nr.**

1-10 eingegangen am 13.12.2004 mit Schreiben vom 13.12.2004

**Zeichnungen, Blätter**

1/1 in der ursprünglich eingereichten Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um:

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:
- ☐ Ansprüche,      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen.)*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

- |                                |   |
|--------------------------------|---|
| 1. Feststellung                |   |
| Neuheit (N)                    | Ja: Ansprüche 1-10<br>Nein: Ansprüche   |
| Erfinderische Tätigkeit (IS)   | Ja: Ansprüche 1-10<br>Nein: Ansprüche   |
| Gewerbliche Anwendbarkeit (IA) | Ja: Ansprüche: 1-10<br>Nein: Ansprüche: |

2. Unterlagen und Erklärungen:

**siehe Beiblatt**

**Zu Punkt V**

**Begründete Feststellung hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

**V.1 Zitierte Dokumente**

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: BOER JUDITH M ET AL: 'Identification and classification of differentially expressed genes in renal cell carcinoma by expression profiling on a global human 31,500-element cDNA array' GENOME RESEARCH, COLD SPRING HARBOR LABORATORY PRESS, US, Bd. 11, Nr. 11, November 2001 (2001-11), Seiten 1861-1870, XP00221 5718 ISSN: 1088-9051
- D2: SARTO C ET AL: 'MODIFIED EXPRESSION OF PLASMA GLUTATHIONE PEROXIDASE AND MANGANESE SUPEROXIDE DISMUTASE IN HUMAN RENAL CELL CARCINOMA' ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, DE, Bd. 20, Nr. 17, November 1999 (1999-11), Seiten 3458-3466, XP001176871 ISSN:0173-0835
- D3: WO 9629430 A (WAYNE JOHN CANCER INST ;NAT GENETICS INST (US)) 26. September 1996 (1996-09-26)
- D4: MOERK H ET AL: 'INVERSE MRNA EXPRESSION OF THE SELENOCYSTEINE-CONTAINING PROTEINS GI-GPX AND SEP IN COLORECTAL ADENOMAS COMPARED WITH ADJACENT NORMAL MUCOSA' NUTRITION AND CANCER, LONDON, GB, Bd. 37, Nr. 1, 2000, Seiten 108-116, XP008014221 ISSN: 0163-5581
- D5: SARTO C ET AL: 'RENAL CELL CARCINOMA AND NORMAL KIDNEY PROTEIN EXPRESSION' ELECTROPHORESIS, WEINHEIM, DE, Bd. 18, Nr.3/4, 1997, Seiten 599-604, XP008026280 ISSN: 0173-0835
- D6: GLADYSHEV VADIM N ET AL: 'Contrasting patterns of regulation of the antioxidant selenoproteins, thioredoxin reductase, and glutathione peroxidase, in cancer cells' BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, Bd. 251, Nr. 2, 20. Oktober 1998 (1998-10-20), Seiten 488-493, XP002272356 ISSN: 0006-291X
- D7: BRAVARD A ET AL: 'Modifications of the antioxidant enzymes in relation to

chromosome imbalances in human melanoma cell lines' MELANOMA  
RESEARCH, Bd. 8, Nr. 4, August 1998 (1998-08), Seiten 329-335,  
XP002272357 ISSN: 0960-8931

D8: PESKIN A V ET AL: 'SUPER OXIDE DIS MUTASE AND GLUTATHIONE PER  
OXIDASE ACTIVITIES IN TUMORS' FEBS LETTERS, Bd. 78, Nr. 1, 1977,  
Seiten 41-45, XP002272358 ISSN: 0014-5793

D9: KAHLOS KATRIINA ET AL: 'Manganese superoxide dismutase in healthy  
human pleural mesothelium and in malignant pleural mesothelioma'  
AMERICAN JOURNAL OF RESPIRATORY CELL AND MOLECULAR  
BIOLOGY, Bd. 18, Nr. 4, April 1998 (1998-04), Seiten 570-580, XP002272359  
ISSN: 1044-1549

V.2 Neuheit, Erfinderische Tätigkeit und Industrielle Anwendbarkeit (Art. 33  
PCT)

2.1 Die vorliegende Anmeldung beschreibt ein Verfahren zur Untersuchung von  
Körperflüssigkeiten auf Krebszellen,

Dokument D1 beschreibt Untersuchungen von Geweben, wobei die Expression  
von Mangan-Superoxiddismutase und Glutathionperoxidase in Tumorgewebe  
gemessen wird. D1 vermutet zwar, dass diese Proteine als Marker für die  
Diagnose von Nierenzell-Karzinom verwendbar seien (D1: S. 3458), es  
beschreibt aber kein solches Verfahren zur Untersuchung von  
Körperflüssigkeiten auf Krebszellen.

In D2 sind Untersuchungen von Krebs- und normalen Zellen beschrieben, die  
die Expression von Glutathion-Peroxidase und Superoxid-Dismutase messen  
(D2: Fig. 5). Es sind Expressions Profile beschrieben, die zur Klassifizierung  
von Nierenzell-Karzinom verwendet werden sollen (S. 1867). D2 beschreibt  
aber kein diese Marker verwendendes Verfahren zur Untersuchung von  
Körperflüssigkeiten auf Krebszellen.

Anspruch 1 scheint somit neu gegenüber D1 und D2 zu sein. Das gleiche gilt für die abhängigen Ansprüche 2-8.

Auch folgende Merkmale sind im Stand der Technik (D1-D9) nicht offenbart: Einen Analysekit enthaltend Mittel zur Bestimmung von wenigstens einem Mangan-Superoxiddismutase Gen, wenigstens einem Thioredoxinreduktase Gen und wenigstens einem Glutathionperoxidase Gen (Ansprüche 9 und 10).

Der Gegenstand der Ansprüche 1-10 ist somit neu (Artikel 33(2) PCT),

- 2.2 Dokument 1 beschreibt Untersuchungen von Geweben, wobei die Expression von Mangan-Superoxiddismutase- und Glutathionperoxidase-Genen gemessen wird. Wie oben dargestellt, weist D1 darauf hin, dass diese Proteine als Marker für die Diagnose von Nierenzell-Karzinom verwendbar seien (D1: S. 3458). Die vorliegende Anmeldung unterscheidet sich von D1, indem obige Marker (ManganSuperoxiddismutase und Glutathionperoxidase) zur Bestimmung von Krebszellen in Körperflüssigkeiten verwendet werden.

Der technische Effekt dieser Methode ist, dass Krebszellen in der Körperflüssigkeit nachgewiesen werden können, das heisst auch zirkulierende Krebszellen, die vom Primärtumor verschieden sein können. Zudem ist dieses Verfahren weitgehend unabhängig von der Art des Tumors und weist eine hohe Verlässlichkeit auf.

Das technische Problem der Anmeldung kann somit darin gesehen werden, ein zuverlässiges Verfahren bereitzustellen, dass den Nachweis von Krebszellen aus Körperflüssigkeiten erlaubt, das nicht auf eine Tumorart begrenzt ist.

In D1 ist kein Hinweis zu finden, der den Fachmann zur Entwicklung eines solchen Verfahrens veranlassen könnte. Der Gegenstand von Anspruch 1, sowie der davon abhängigen Ansprüche 2-8, beinhaltet somit eine

erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT).

- 2.3 Anspruch 9 beschreibt einen Analysekit, der Mittel zur Bestimmung der Expression von zumindest 3 Genen, nämlich eines Mangan-Superoxiddismutase Gens, eines Thioredoxinreduktase Gens und eines Glutathionperoxidase Gens, beinhaltet. In D1 und D2 sind Komponenten beschrieben, die zur Bestimmung von 2 dieser Marker verwendet werden können.

Es wird allerdings weder in D1 noch in D2 eine Analysekit offenbart, welches alle drei Komponenten beinhaltet, noch enthalten besagte Dokumente Hinweise auf eine mögliche Kombination genau dieser drei Markermoleküle. Ein Analysekit gemäss Ansprüchen 9 und 10 wird daher weder in D1 noch in D2, alleine oder in Kombination, offenbart oder nahegelegt.

Damit wird auch die vorteilhafte Verwendung einer Kombination dieser drei Markermoleküle, wie auf Seite 37 der Beschreibung dargestellt, weder offenbart noch nahegelegt.

Ansprüche 9 und 10 erfüllen daher die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.

- 2.4 Der Gegenstand der Ansprüche 1-10 scheint industriell anwendbar zu sein.

V.3 Weitere Bemerkungen:

- 3.1 Die Anmeldung soll selbst-erklärend sein und Referenzen können nicht als Teil der Beschreibung aufgenommen werden (z.B. S. 25 der Beschreibung).

- 3.2 Auf Seite 3 ist der Begriff "Krebszelle" definiert als auch Vorstufen von Krebszellen enthaltend. Es ist unklar, ob diese Definition allgemein üblich ist. Die genaue Definition des Begriffs sollte im Anspruch 1 klar (enthalten) sein, um den Anforderungen von Artikel 6 PCT zu genügen.

- 3.3 Der Ausdruck "insbesondere" in Anspruch 8 bewirkt keine Beschränkung des Schutzzumfanges des Patentanspruchs und ruft Unklarheit hervor (Artikel 6 PCT).
- 3.4 Das auf Seite 27 beschriebene Ausführungsbeispiel (Behandlung von Krebs) der Erfindung lässt sich nicht den vorliegenden Ansprüchen unterordnen. Dieser Widerspruch zwischen den Ansprüchen und der Beschreibung führt zu Zweifeln bezüglich des Gegenstandes des Schutzbegehrens, weshalb die Ansprüche nicht klar sind (Artikel 6 PCT). Der Anmelder sollte daher diesen Widerspruch beheben, und zwar z.B. indem klargestellt wird, dass die Behandlungsmethoden nur illustrativ dargestellt sind und nicht beansprucht werden.
- 3.5 Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a)ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D9 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.



## Patentansprüche

1. Verfahren zum Untersuchen einer Körperflüssigkeit auf Krebszellen, wobei man an wenigstens einer zellhaltigen Fraktion der Körperflüssigkeit die Expression von wenigstens 2 Genen bestimmt, die ausgewählt sind unter
  - i) Mangan-Superoxiddismutase-Genen;
  - ii) Thioredoxinreduktase-Genen; und
  - iii) Glutathionperoxidase-Genen.
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man die Expression wenigstens eines Mangan-Superoxiddismutase-Gens, wenigstens eines Thioredoxinreduktase-Gens und wenigstens eines Glutathionperoxidase-Gens bestimmt.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Körperflüssigkeit ausgewählt ist unter Blut, Knochenmark, Lymphe, Sputum, Lavagen, Punktionen, Ascites, Schleimhautabstrichen, Exsudaten, Urin und Stuhl.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass man die zellhaltige Fraktion aus der Körperflüssigkeit unter Anreicherung von Krebszellen gewinnt.
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass man
  - die zellhaltige Fraktion aus der Körperflüssigkeit unter Anreicherung von Krebszellen gewinnt und die Expression der Gene in der zellhaltigen Fraktion bestimmt,
  - eine weitere zellhaltige Fraktion der Körperflüssigkeit oder einer vergleichbaren biologischen Probe bereitstellt und die Expression der Gene in der weiteren zellhaltigen Fraktion bestimmt, und
  - für jedes Gen dessen Expression in der zellhaltigen Fraktion mit dessen Expression in der weiteren zellhaltigen Fraktion vergleicht.

BEST AVAILABLE COPY

6. Verfahren nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass die vergleichbare biologische Probe aus dem Individuum stammt, dessen Körperflüssigkeit auf Krebszellen untersucht wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, dass man feststellt, ob die Expression der Gene in der zellhaltigen Fraktion im Vergleich zur Expression der Gene in der weiteren zellhaltigen Fraktion erhöht ist.
8. Verwendung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 7 zur Identifizierung von disseminierten Krebszellen in einem Individuum, insbesondere zur Tumorfriherkennung, und zur Abschätzung des Risikos, dass das Individuum eine Metastase oder ein Rezidiv entwickelt.
9. Analysekit, enthaltend
  - i) Mittel zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Mangan-Superoxiddismutase-Gens;
  - ii) Mittel zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Thioredoxinreduktase-Gens; und
  - iii) Mittel zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Glutathionperoxidase-Gens,

und gegebenenfalls weitere übliche Mittel zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 7.

10. Analysekit nach Anspruch 9, enthaltend
  - i) sequenzspezifische Primer und/oder Sonden zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Mangan-Superoxiddismutase-Gens;
  - ii) sequenzspezifische Primer und/oder Sonden zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Thioredoxinreduktase-Gens; und
  - iii) sequenzspezifische Primer und/oder Sonden zur Bestimmung der Expression wenigstens eines Glutathionperoxidase-Gens,

und gegebenenfalls weitere übliche Mittel zur Durchführung eines Verfahrens nach einem der Ansprüche 1 bis 7.

**BEST AVAILABLE COPY**